ADANSONIA, ser. 2, 16 (1) : 107-117, 1976.

EXPÉRIMENTATION MICROCHIRURGICALE SUR LA FEUILLE DE *MYRIOPHYLLUM BRASILIENSE* CAMB.

par Bernard JEUNE

RÉSUMÉ : La feuille aérienne de *Myriophyllum brasiliense* Camb. est morphogénétiquement un axe à croissance basipète possédant, près de la base, deux centres pulsateurs engendrant des lobes latéraux (métamères); la suppression microchirurgicale d'un centre pulsateur provoque l'absence d'une séquence de lobes latéraux sur la feuille adulte. La vascularisation est subordonnée à l'existence des métamères et sa disposition ne traduit que leurs corrélations de croissance; son origine ontogénique est donc, au moins en partie, de nature physiologique. Ceci permet de préciser le mode de croissance de certaines feuilles de dicotylédones.

RESUMEN: La hoja aérea del *Myriophyllum brasiliense* Camb. es, morfogeneticamente, un eje con crecimiento basipeta que posee, al nivel casi de la base, dos centros pulsatores, los que engendran unos lóbulos laterales (metámeros); la supresión microquirúrgica de un centro pulsator provoca la ausencia de una secuencia de lóbulos laterales en la hoja adulta. La vascularización esta subordinada a la existencia de los metámeros y su distribución sólo traduce sus correlaciones de crecimiento; su origén ontogenico es pués, en parte por lo menos, de clase fisiológica. Eso permite precisar el modo de crecimiento de algunas hojas de dicotiledones.

I. — INTRODUCTION

L'étude de la morphogénèse des feuilles aériennes de *Myriophyllum brasiliense* Camb. nous a montré, comme nous l'avons exposé dans un article précédent (JEUNE, 1975), une grande analogie entre le mode d'apparition des lobes le long du rachis et la formation des initiums foliaires au sommet de la tige.

Rappelons que nous avons constaté l'apparition des lobes latéraux à une distance fixe de la base de l'ébauche et à des intervalles de temps constants, suggérant l'existence de centres pulsateurs de lobes, au moins analogues aux centres générateurs de feuilles existant au sommet de la tige.

Pour vérifier cette hypothèse, nous avons réalisé quelques expériences microchirurgicales sur le modèle de celles ayant permis à LOISEAU et TORT (1955 à 1970) de préciser le rôle des centres générateurs foliaires et la phyllotaxie des dicotylédones.

MATÉRIEL ET TECHNIQUES

Les rameaux de *Myriophyllum brasiliense* Camb. sont cultivés à la température de 22 ± 1°C sous une photopériode de 16 heures pour certains, 24 heures pour les autres; des tubes Gro-Lux fournissent aux échantillons un éclairement énergétique d'environ 17 $W.m^{-2}$. N'ayant observé aucune différence entre les rameaux placés dans ces conditions différentes de photopériode, en ce qui concerne la morphologie foliaire et la réaction à un traumatisme, nous n'en tiendrons pas compte dans la suite de cette étude.

Les feuilles de ce *Myriophyllum* sont pinnatiséquées, à croissance basipète et disposées en verticilles; nous avons constaté l'apparition d'un lobe toutes les 8 heures environ, de chaque côté de l'ébauche, à une distance approximative de 50 µ de sa base. Cette production de lobes latéraux (3 paires par jour) s'observe sur les feuilles de longueur comprise entre 90 µ et 1,5 mm (fig. 1). Les feuilles adultes sont habituellement d'une longueur comprise entre 1,5 mm et 3 cm (fig. 2).

Le principe de l'expérimentation est simple : on détruit par piqûre la région basale où sont initiés les lobes, d'un seul côté de l'ébauche. Malheureusement le point végétatif est étroitement protégé par les feuilles des verticilles successifs formant une sorte de bourgeon terminal; cette disposition nous oblige à retirer, le long d'une ligne méridienne, une ou deux feuilles par verticille pour atteindre les jeunes ébauches à opérer.

L'expérience montre, toutefois, que cette mutilation ne provoque qu'une diminution de longueur d'un ou deux entre-nœuds dont on supprime de jeunes ébauches; l'opération ne modifie qualitativement ni la forme des feuilles des verticilles supérieurs, ni l'activité du point végétatif au-dessus de ces verticilles à entre-nœuds courts.

Pour modifier la forme foliaire on détruit par piqûre une région latérobasale d'une

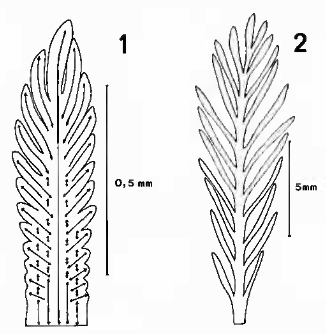


FIG. 1-2. — **1**, Ébauche de 0,8 mm de longueur; les lobes latéraux apparaissent en ordre basipète; les directions de croissance sont indiquées par des flèches; **2**, Feuille adulte longue de 1,6 cm, pinnatiséquée, telle qu'elle a été construite à partir d'une ébauche comparable à celle de la figure **1**.

ébauche très jeune. Cependant, compte tenu de la contigüité des feuilles et des faibles dimensions du point végétatif, on blesse souvent la base de l'ébauche voisine ainsi qu'une portion des tissus corticaux de la tige. Les modifications provoquées par l'expérimentation sont ensuite observées après une quinzaine de jours, lorsque les feuilles opérées sont adultes.

II. — RÉSULTATS

Le premier effet de la blessure est de provoquer, dans tous les cas, un ralentissement de la croissance et du développement de la pousse feuillée. Si la blessure est localisée à la base d'une ou deux ébauches voisines, ce ralentissement est passager et les processus morphogénétiques reprendront rapidement. Si la blessure est plus étendue, affectant une partie des tissus corticaux de la tige, on observera un arrêt total de la croissance de l'apex et des jeunes feuilles, suivi, à terme, par la nécrose de cet apex et son remplacement ultérieur par un bourgeon latéral. Évidemment, sont seuls analysables les rameaux poursuivant rapidement leur croissance et leur activité phyllogène.

Nous décrirons succinctement les altérations phyllotaxiques, puis, plus en détail, les perturbations dans le déroulement de la croissance foliaire.

1. MODIFICATIONS DE LA PHYLLOTAXIE

Nous avons opéré 35 rameaux; 11 d'entre eux ont poursuivi leur croissance; parmi ces derniers, 10 présentent des modifications phyllotaxiques.

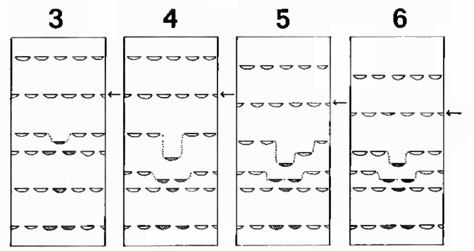


FIG. 3 à 6. — Différentes positions phyllotaxiques observées après section basale d'ébauches (dont la cicatrice est indiquée en grisé) pour dégager le point végétatif jusqu'au niveau du verticille opéré (indiqué par une flèche à droite de chaque figure).

Sur 2 rameaux l'opération a sans doute été plus radicale que nous l'eussions souhaité. On constate dans plusieurs verticilles situés au-dessus du verticille opéré l'absence d'une feuille à chaque fois. Les emplacements vides sont au-dessus les uns des autres le long d'une même ligne méridienne.

Dans 8 autres rameaux, les modifications n'affectent que les verticilles situés sous la piqûre (fig. 3 à 6); les altérations se traduisent par un raccourcissement des entre-nœuds plus ou moins accentué, comme nous l'avons déjà indiqué plus haut, et par un décalage entre insertions foliaires d'un même verticille. Ces modifications ne sont pas dues à l'opération proprement dite, mais au dégagement du point végétatif; de plus, elles n'affectent que dans un cas le verticille sur lequel porte l'expérimentation.

2. MODIFICATIONS DE LA CROISSANCE FOLIAIRE

Sur 6 des 11 rameaux précédents, la piqûre à l'emplacement d'un centre pulsateur présumé de lobes latéraux (dans la région latéro-basale de la jeune ébauche foliaire) a profondément modifié la croissance de la feuille. Deux ébauches voisines sont altérées dans 2 cas; nous obtenons donc un total de 8 feuilles modifiées (fig. 7 à 14); 2 ébauches possèdent, en outre, une disposition anormale des lobes, du côté non blessé (fig. 13 et 14).

Nous comparerons ces cas à celui de certaines feuilles plus âgées que les précédentes, au moment de l'opération et qui ont eu les initiums de leurs lobes latéro-basaux détruits.

a) Suppression d'un centre pulsateur de lobes latéraux

Cette opération microchirurgicale a donc réussi dans 8 cas. Dans tous, les deux côtés de chaque feuille sont très dissemblables. L'un possède des lobes depuis le sommet jusqu'à la base de la feuille, comme il est normal; l'autre, au contraire, montre quelques lobes sous le sommet (ceux qui étaient initiés à l'instant de l'opération), puis, sur une longueur de plusieurs millimètres, parfois, un rachis rectiligne sans trace de ramification (fig. 7 à 14). Plusieurs points sont à noter :

— Le rachis de la feuille adulte reste à peu près rectiligne; l'absence de « ramification » latérale n'a pas sensiblement perturbé son allongement normal.

— La trace vasculaire issue du lobe médian (= terminal) est dans le plan de symétrie de la feuille tout au long du rachis, ce qui montre bien que la croissance en largeur du rachis n'est pas affectée par l'absence locale de lobes latéraux.

— Il n'existe aucune trace de vascularisation latérale dans le rachis du côté opéré (cellules différenciées ou procambium) après observation des feuilles éclaircies au chloral lactophénol; de même, sur la marge et dans le mésophylle, il n'existe aucune cellule ou massif de cellules parti-

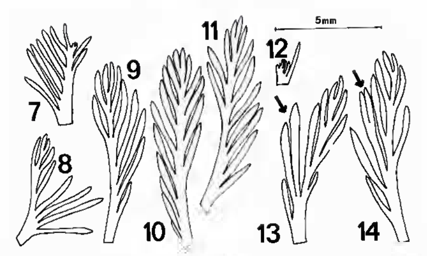


Fig. 7 à 14. — Feuilles opérées dont un centre pulsateur a cessé de fonctionner. Les feuilles 13 et 14 présentent un « lobe double » dont la position est indiquée par une flèche. Les feuilles 7 et 12 ont subi un traumatisme supplémentaire (apical), ce qui n'a pas modifié qualitativement leur croissance.

culières rappelant un « initium de lobe »; l'opération n'a donc pas provoqué une insuffisance de développement de lobes initiés qui seraient alors décelables par les méthodes anatomiques. L'opération a réellement supprimé la possibilité d'initiation des lobes et de façon durable. Le fonctionnement rythmique du centre pulsateur a cessé du côté opéré, alors que son symétrique continue à fonctionner normalement.

— La cicatrice apparaît toujours sur les feuilles adultes, à la base du rachis, et non sous le dernier lobe initié au moment de l'opération.

b) Anomalies liées au ralentissement de la croissance

A notre avis, elles sont de deux ordres :

— La feuille opérée est plus courte que les autres feuilles du même verticille; elle porte du côté intact un ou deux lobes latéraux de moins. Il s'agit d'une modification d'ordre quantitatif, sans changement des corrélations de croissance entre lobes; de telles feuilles courtes sont également présentes sur les rameaux dont l'apex est affaibli après une piqûre trop étendue et reste un instant phyllogène avant sa dégénérescence complète.

— Deux feuilles possèdent, du côté intact, un lobe apparemment dédoublé (fig. 13 et 14). Ce phénomène est d'autant plus remarquable qu'il ne s'observe jamais naturellement dans nos cultures. De plus :

Dans les deux cas, le « lobe double » est situé au niveau de la blessure provoquée de l'autre côté du rachis; les deux branches du « lobe double » sont asymétriques, celle située vers l'apex de la feuille est plus longue que l'autre.

Nous expliquerons plus loin les raisons qui nous font penser que cette anomalie est liée au ralentissement de la croissance.

c) Suppression d'initiums (déja formés) de lobes

Pour dégager le point végétatif, on enlève, au moment de l'opération, le moins de feuilles possibles; les plus jeunes parmi celles qui restent sont écartées pour atteindre la zone opérée; souvent, leurs plus jeunes lobes sont détruits par la manipulation. Ces feuilles, adultes, se présentent à l'œil nu comme celles dont un centre pulsateur a été détruit. L'observation microscopique montre, cependant, des différences importantes (fig. 15) :

Sur le bord rectiligne du rachis, la trace des lobes détruits subsiste sous forme de massifs de cellules nécrosées ou subérifiées.

Dans le rachis, la nervation du lobe détruit existe, bien que réduite; parfois même, les trachéides n'atteignent pas la zone cicatricielle sur le bord du rachis. Le cordon vasculaire de ce lobe se termine donc de façon aveugle (fig. 15b).

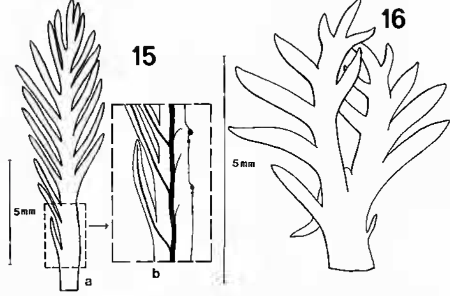


Fig. 15 - 16. — **15 a**, feuille dont certains initiums ont été détruits; en **b**, base de cette feuille montrant la vascularisation réduite, correspondant aux lobes détruits; **16**, « Ébauche double »; la partie gauche présente, du côté de l'accolement, un manque de lobes latéraux.

III. — INTERPRÉTATIONS

Pour prouver, expérimentalement, l'existence de centres générateurs (au sens de Plantefol, 1948), il suffit d'en supprimer un par traumatisme (Loiseau, 1970); de même, nous pensons que la possibilité de suppression

microchirurgicale d'un centre pulsateur serait une preuve de leur existence, à ajouter aux indices déjà notés (rythmicité de l'apparition des lobes à un emplacement fixe par rapport à la base de la feuille). Comme dans le cas des centres générateurs foliaires où une ablation microchirurgicale est suivie de la suppression, au moins temporaire, d'une hélice foliaire, dans le cas des centres pulsateurs de lobes, nos expérimentations ont abouti à la suppression d'une séquence de lobes.

Morphogénétiquement, la feuille du *Myriophyllum brasiliense* Camb. correspond à un axe dont la croissance est basipète, possédant près de sa base deux centres pulsateurs initiant rythmiquement deux files de lobes latéraux.

En ce qui concerne le rôle des initiums de lobes sur le fonctionnement des centres pulsateurs, trois hypothèses simples sont possibles : *a*) pas d'action, *b*) stimulation, *c*) inhibition. La troisième est pour nous la plus logique.

En effet, en observant les « feuilles doubles » résultant du dédoublement d'hélices foliaires, assez communes vers la base des rameaux, on constate fréquemment l'absence de certains lobes latéraux dans la région médiane de la « feuille double » (fig. 16); or, il est clair que ces lobes auraient dû se former à des niveaux où les ébauches étaient séparées. Il semble donc que la proximité d'une masse méristématique (ici l'autre moitié de la « feuille double ») a inhibé la formation de certains lobes; de la même façon, dans une feuille, chaque initium de lobe, qui est aussi une masse méristématique, inhibe peut-être le centre pulsateur. On comprendrait alors pourquoi une certaine distance (environ 30 μ) entre l'axe du dernier initium formé et le centre pulsateur est nécessaire avant que ce dernier ne fonctionne à nouveau.

Les faits observés par Turlier (1972) dans le *myriophyllum spicatum* L. (initiums des lobes séparés par 2 cellules) s'accordent également avec cette hypothèse.

Par ailleurs, il peut être intéressant de s'interroger sur les processus morphogénétiques reliant, dans nos feuilles, vascularisation et création de lobes. Quatre points peuvent être examinés :

— Au cours de la croissance normale de ces feuilles, la différenciation vasculaire précoce est acropète dans chaque lobe depuis un point nodal situé dans le rachis (les branches basipètes appartenant aux différents lobes latéraux se réunissent pour former l'essentiel de la trace foliaire); il semble qu'il en soit de même pour la formation du procambium, ce qui est du reste admis pour les nervures d'ordre 2 des feuilles de dicotylédones en général (Esau, 1965).

— Quand un initium de lobe est supprimé précocement, sa vascularisation est très réduite, parfois même, ainsi que nous l'avons indiqué, elle n'atteint pas la marge de la feuille (fig. 15). L'arrêt (provoqué) de croissance du lobe entraîne l'arrêt de formation des tissus conducteurs.

— L'existence des « lobes doubles » est également intéressante. Parmi les hypothèses concernant leur origine, une nous semble possible car elle

tient compte d'un fait constamment observé, le ralentissement de croissance après l'expérimentation : la blessure provoque donc dans le rachis un arrêt momentané de croissance. Les deux plus jeunes initiums de lobes, en formation du côté intact, ne sont plus séparés par une zone de croissance en longueur dans le rachis (fig. 17); par la suite, ils se développent conjointement (fig. 18 à 20), induisant ainsi la formation d'un seul faisceau conducteur axial.

— Enfin, après suppression d'un centre pulsateur, les lobes ne sont pas initiés et dans le rachis, aucune trace de vascularisation latérale n'est visible.

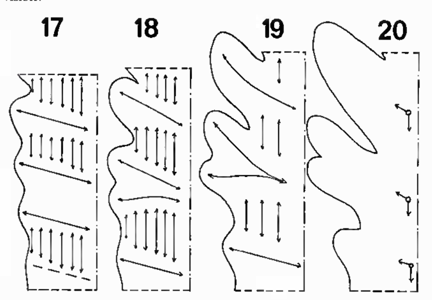


FIG. 17 à 20. — Mode de formation hypothétique des « lobes doubles » sur les feuilles représentées figures 13 et 14. Après le ralentissement de croissance provoqué par la blessure du côté gauche de la feuille (non représenté), reprise des mitoses (dont l'orientation est indiquée par des flèches), sauf entre les deux derniers lobes initiés (fig. 17). Ces deux lobes se développent donc conjointement (fig. 18 et 19) et, au niveau du rachis, ne se forme qu'un point nodal pour ces deux lobes liés (fig. 20).

Ces quatre points s'interprètent aisément si l'on considère (comme l'a montré CAMUS, 1949, par ses expériences de greffe) que les régions méristématiques (ici, les initiums des lobes) induisent la différenciation des cellules conductrices. C'est, du reste, l'opinion de CROIZAT-CHALEY (1973) qui écrit « on n'accordera pas au réseau fibro-vasculaire le privilège de définir la « valeur morphologique » d'une partie quelconque de la plante. En effet, l'organe crée le réseau qui convient à son état et à ses fonctions et ce n'est pas le réseau qui fait l'organe ».

Ainsi, la feuille est formée d'un ensemble de métamères (CUSSET, 1970) apparaissant successivement grâce au fonctionnement de centres

pulsateurs, comme nous l'avons indiqué plus haut; une fois initié, chaque métamère est alors un massif méristématique dont la croissance induit la différenciation et l'orientation de son faisceau conducteur, la nervure. Ceci est en accord avec les résultats de PRAY (1963) montrant la différenciation progressive du procambium des nervilles, depuis les cordons déjà formés, parmi des cellules du mésophylle encore méristématiques.

Ce résultat nous permet d'émettre une hypothèse sur les rapports entre la forme du limbe et la nervation chez les feuilles de dicotylédones simples, à croissance basipète et penninerviées.

La disposition du réseau de nervures traduit les rapports de position et les corrélations de croissance entre métamères, c'est-à-dire l'orientation

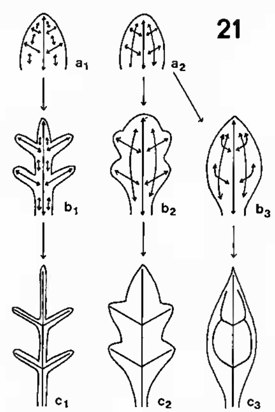


FIG. 21. — Rapports entre orientations principales de croissance et forme et nervation des feuilles. Sur les schémas *a* représentant des primordiums et *b* figurant les ébauches, les directions de croissance sont indiquées par des flèches. Sur les schémas *c* représentant les feuilles adultes, la vascularisation est indiquée par des traits. La succession *a*1, *b*1, *c*1 figure la formation d'une feuille pinnatiséquée; la succession *a*2, *b*2, *c*2, celle d'une feuille simple à nervation craspédodrome; la succession *a*3, *b*3, *c*3, celle d'une feuille simple à nervation brochidodrome due à la dominance temporaire de la croissance longitudinale sur les autres directions. (Pour les termes craspédodrome et brochidodrome, nous utilisons les définitions données par MOUTON, 1970).

des mitoses dans les différentes régions de l'ébauche au moment de la différenciation du procambium (fig. 21). Une confirmation de cette hypothèse est fournie par les changements dans la disposition des nervures et la forme foliaire provoquée par la modification des corrélations de croissance entre éléments de la feuille (Neville, 1964; Jeune, 1972).

La nervation a donc un aspect phylogénétique bien que son origine ontogénique soit, au moins en partie, de nature physiologique (Croizat-Chaley, 1973). D'autre part, le rapport entre orientation nervuraire et direction de croissance a fait l'objet récemment d'une étude de Dulieu, Turlier & Bugnon (1969). Ils ont constaté, par l'observation de chimères chlorophylliennes, que, dans certains cas, l'orientation des nervures principales d'une feuille diffère des directions fondamentales de croissance lorsque la différenciation procambiale est tardive. Ce résultat, malgré les apparences, n'infirme nullement notre hypothèse. En effet, en chaque région de la feuille adulte, les directions principales de croissance, déduites de l'observation de chimères, ne sont que les résultantes (c'est-à-dire la somme) de toutes les directions de croissance ayant en chaque point affecté l'ébauche pendant tout son développement. Ces directions peuvent donc différer des directions nervuraires qui témoignent des orientations de mitoses au seul instant de leur différenciation procambiale.

Bibliographie

Camus, G. — Recherches sur le rôle des bourgeons dans les phénomènes de morphogénèse, Rev. Cytol. et Biol. végé. **11** : 1-199 (1949).

Croizat-Chaley, L. — En torno al concepto de hoja, ensayo de botanica analitica y sintetica, Biblio. Acad. Ciencias Fisicas, Matematicas, y Naturales, Caracas **12** : 1-196 (1973).

Cusset, G. — Remarques sur des feuilles de dicotylédones, Boissiera **16** : 1-210 (1970).

Dulieu, H., Turlier, M. F. & Bugnon, F. — Rapports entre les directions fondamentales de croissance dans l'ébauche et la nervation foliaire, C. R. Acad. Sc. Paris **268**, ser. D : 48-50 (1969).

Esau, K. — Vascular differenciation in plants, Holt, Rinehart and Winston, New York, 1 vol., 160 p. (1965).

Jeune, B. — Observations et expérimentations sur les feuilles juvéniles du *Paulownia tomentosa* H. Bn., Bull. Soc. Bot. Fr. **119** : 215-230 (1972).

— Croissance des feuilles aériennes de *Myriophyllum brasiliense* Camb., Adansonia, ser. 2, **15** (2) : 257-271 (1975).

Loiseau, J. E. — Applications des techniques de microchirurgie à l'étude expérimentale des méristèmes caulinaires, Ann. Biol. **36** : 249-304 (1960).

— La phyllotaxie, Masson et Cie, Paris, 1 vol., 223 p. (1969).

Loiseau, J. E. & Tort, M. — Suppression d'une hélice foliaire chez le *Phlox drummondii* Hook., C. R. Acad. Sc. Paris **260**, ser. D : 3747-3750 (1965).

Mouton, J. A. — Architecture de la nervation foliaire, 92e Congrès National des Sociétés Savantes, Strasbourg et Colmar (1967) **3** : 165-176 (1970).

Neville, P. — Corrélations morphogènes entre les différentes parties de la feuille de *Gleditsia triacanthos* L., Ann. Sc. Bot., ser. 12, **5** : 785-798 (1964).

Plantefol, L. — La théorie des hélices foliaires multiples, Masson et Cie, Paris, 1 vol. (1948).

Pray, T. R. — Origin of vein ending in Angiosperm leaves, Phytomorphology **13** : 60-81 (1963).

Tort, M. & Loiseau, J. E. — Modifications phyllotaxiques provoquées chez le *Phlox drummondii* Hook. (Nouvelles observations), Mém. Soc. Bot. Fr. : 30-49 (1967).
Turlier, M. F. — Recherches sur l'organogénèse foliaire précoce. 1. — Deux espèces pour les ramifications : dichotome et latérale (*Ceratophyllum demersum* L. et *Myriophyllum spicatum* L.), Rev. Gén. Bot. 79 : 297-308 (1972).

Équipe de morphologie végétale,
Université Pierre et Marie Curie,
7, quai Saint-Bernard, 75005 Paris.